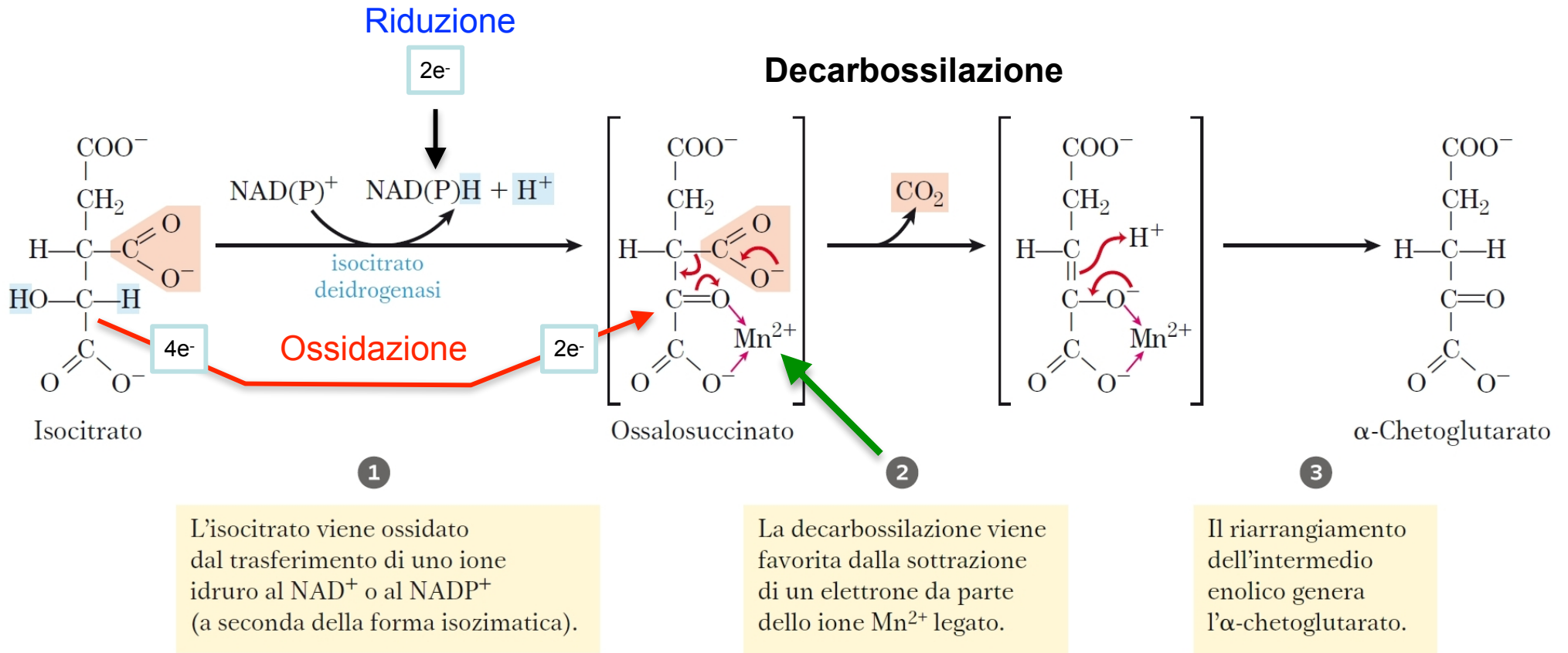


Ciclo dell'acido citrico: **Isocitrato deidrogenasi (3°)**

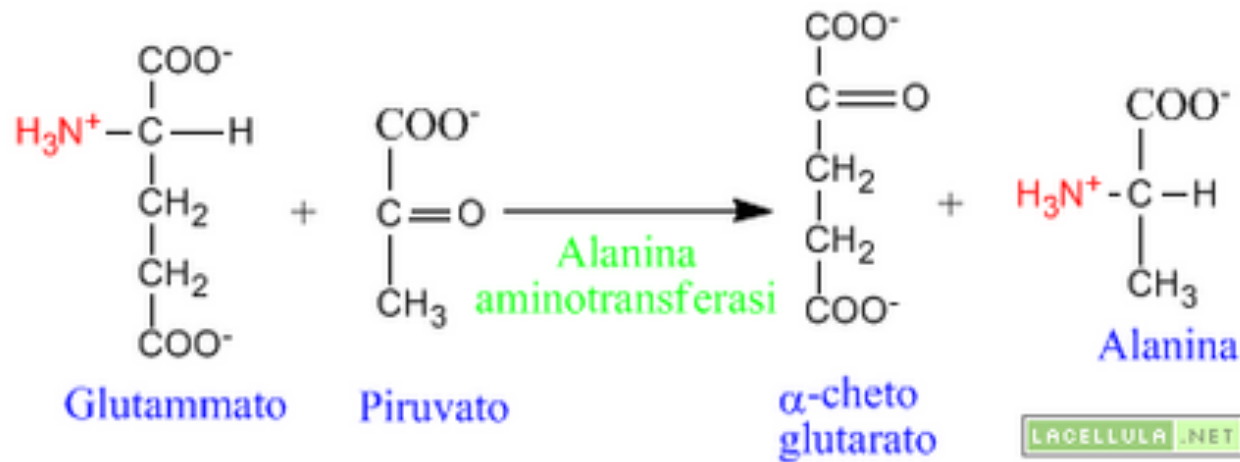
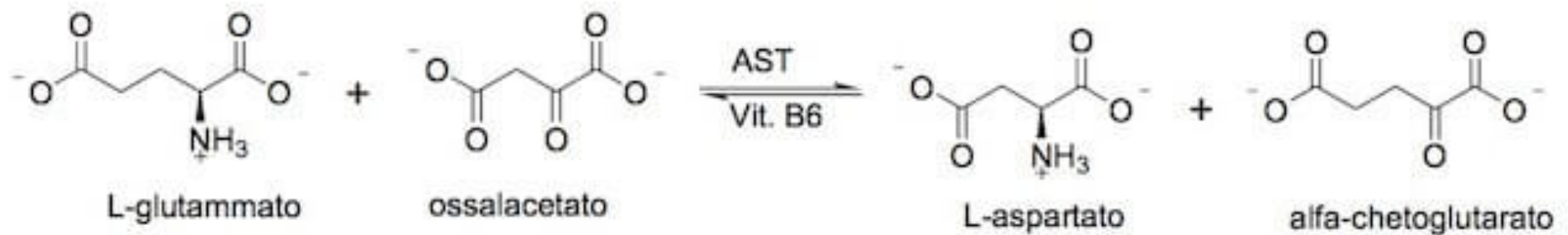
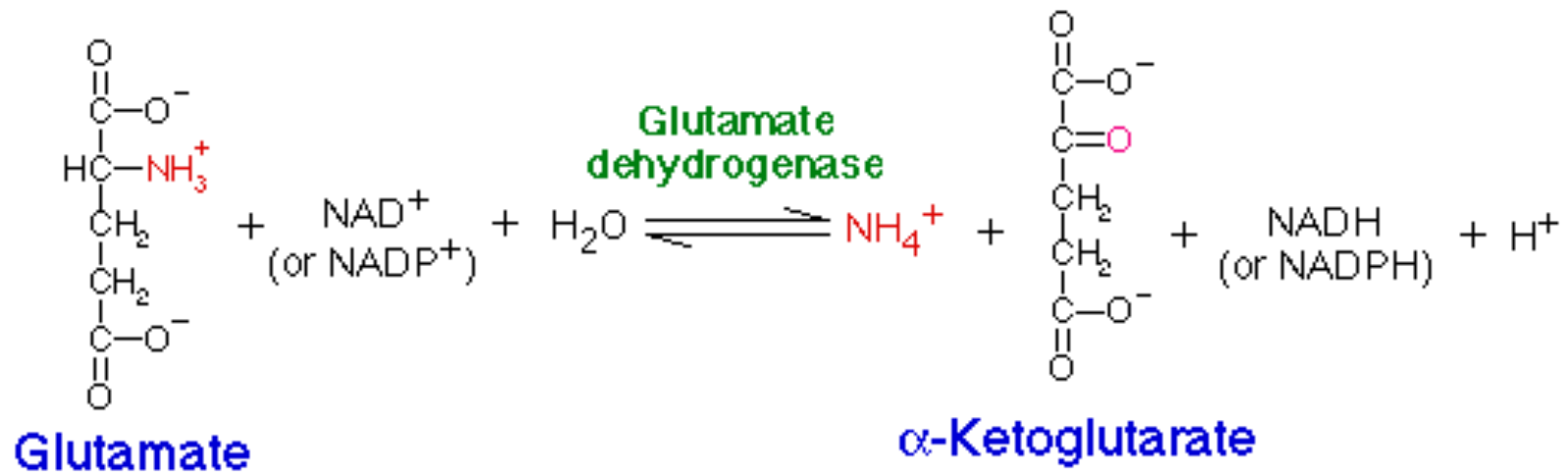


Isocitrato deidrogenasi (due forme)

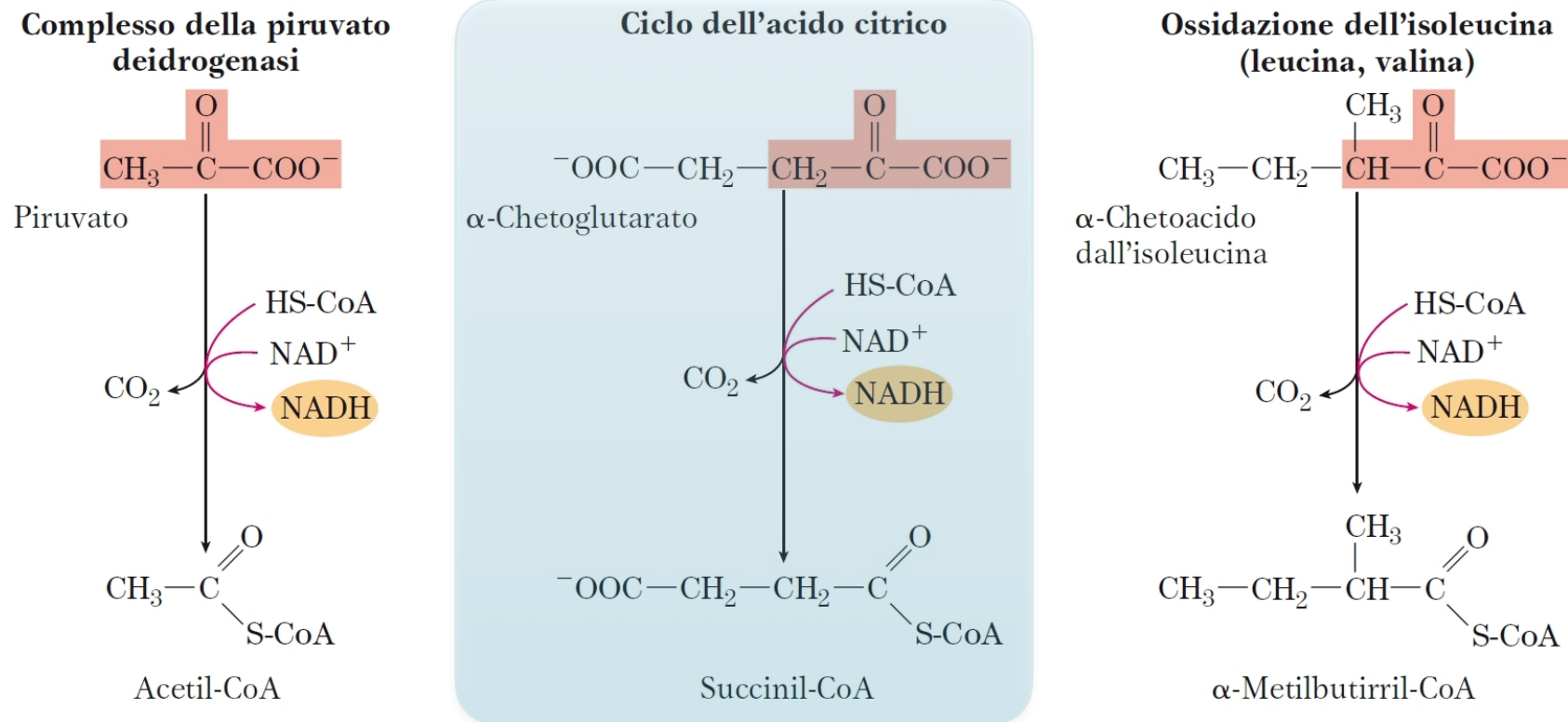
NADPH: utilizzo anabolico (potere riducente) - mitoc. e citosol

NADH: utilizzo catabolico (produzione energia) - mitoc.

Piruvato, ossalacetato, alfa chetoglutarato => Alanina, aspartato, glutammato



Ciclo dell'acido citrico: **alfa-chetoglutarato deidrogenasi (4°)**

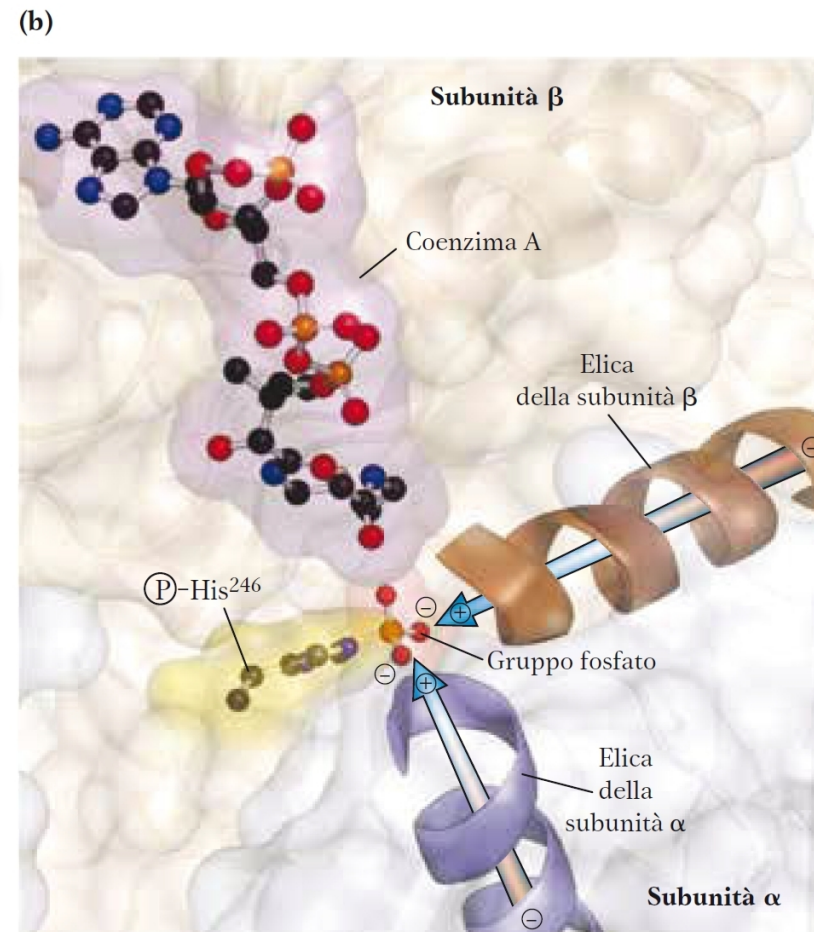
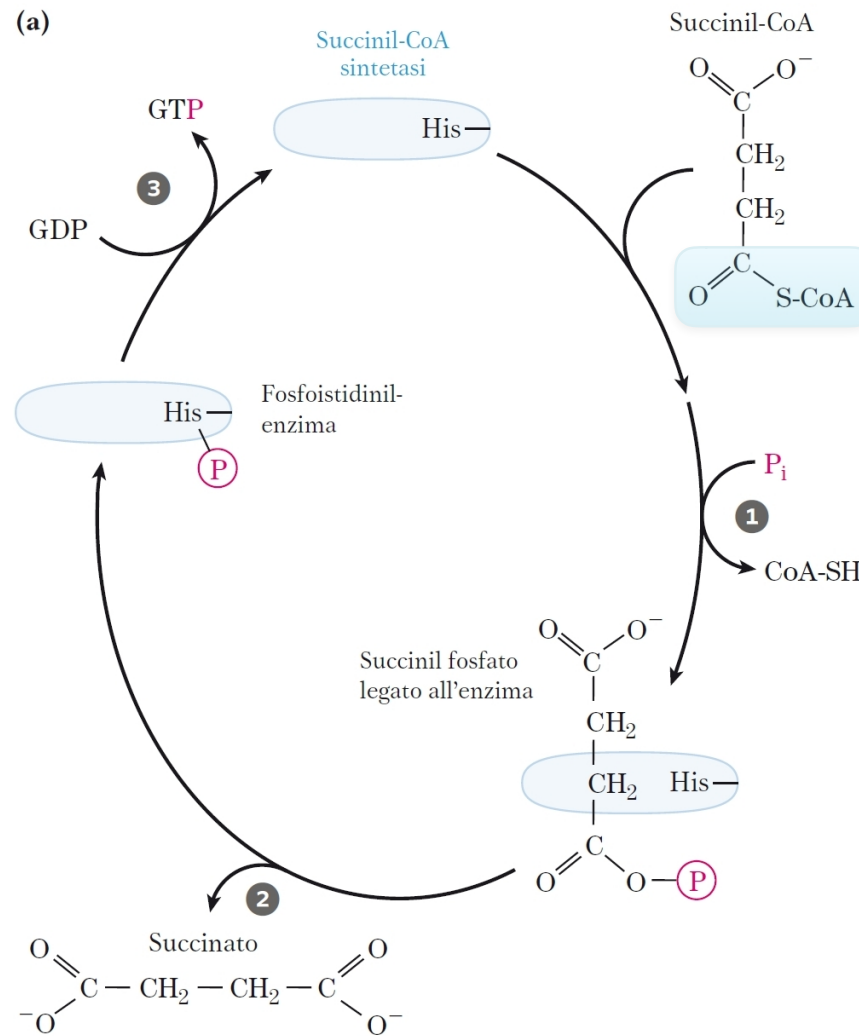


Meccanismo praticamente identico (vedasi PDH)

Evoluzione divergente: duplicazione genica con modifiche per quel che concerne i siti che legano i substrati (per E1 ed E2).

Anello tiazolico TPP / Lipoil-lisina / CoA / FAD / NAD⁺

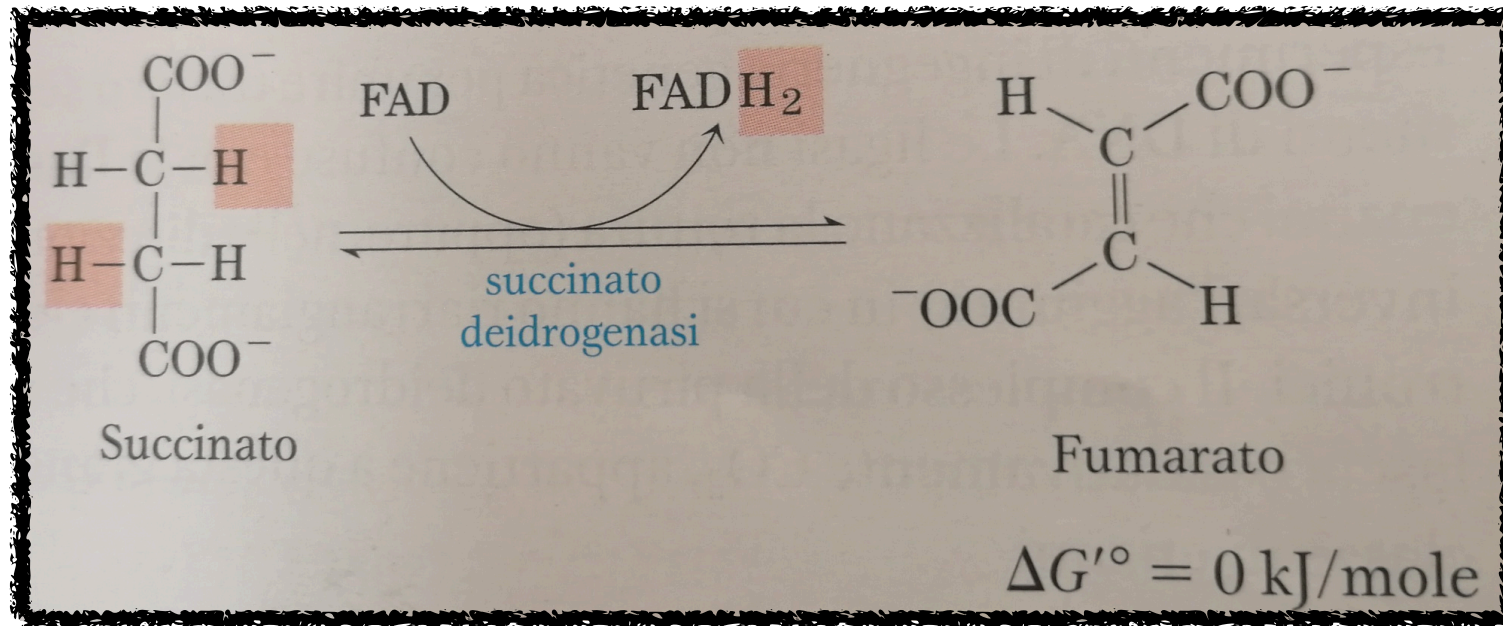
Ciclo dell'acido citrico: **Succinil-CoA sintetasi (5°)**



Succinil-CoA: **Tioestere** con un elevata energia libera di idrolisi
In effetti si tratta di una **fosforolisi** (P_i che spiazza CoA).

Unica tappa del ciclo dell'acido citrico dove si produce ATP (o GTP)
(FOSFORILAZIONE a LIVELLO del SUBSTRATO)

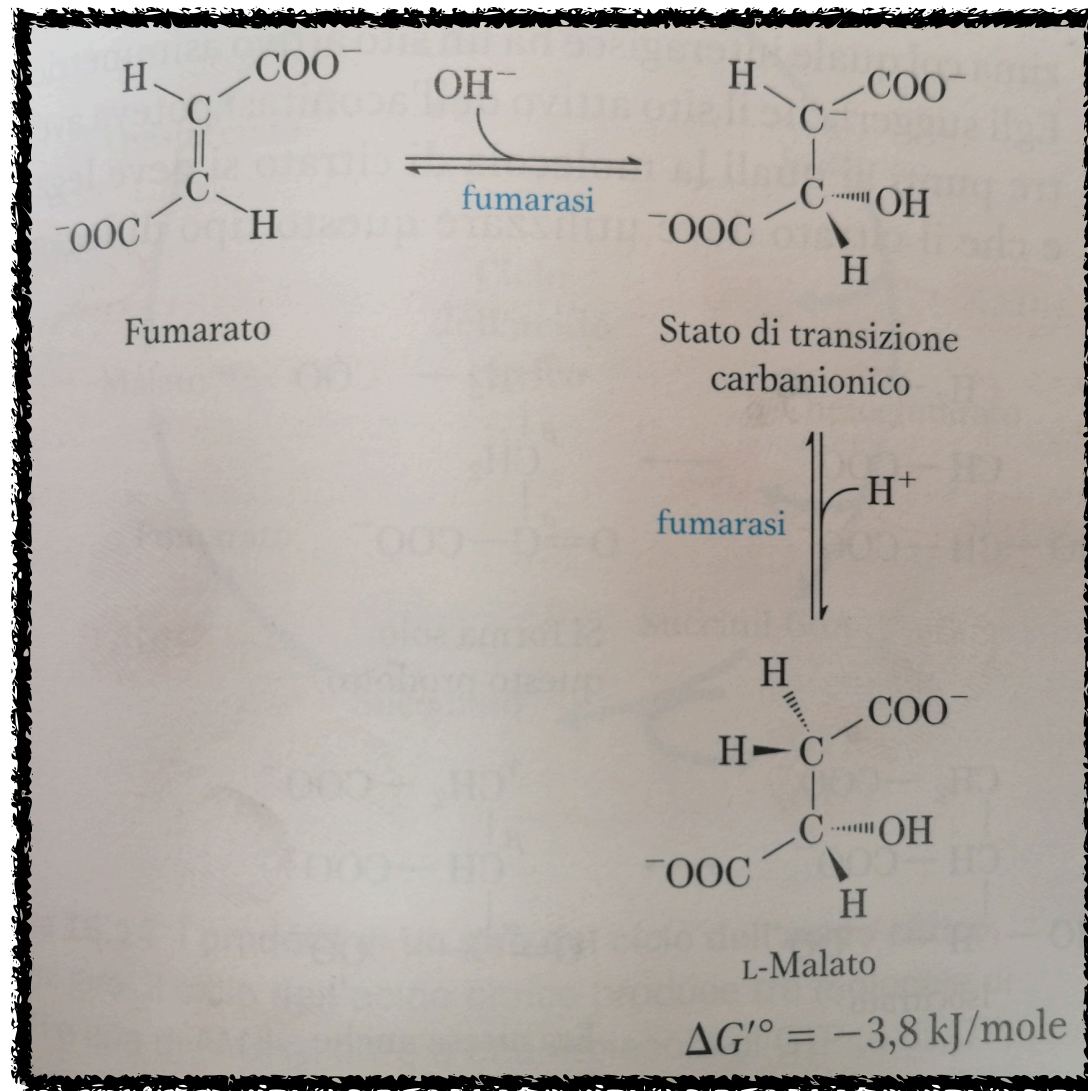
Ciclo dell'acido citrico: **Succinato deidrogenasi (6°)**



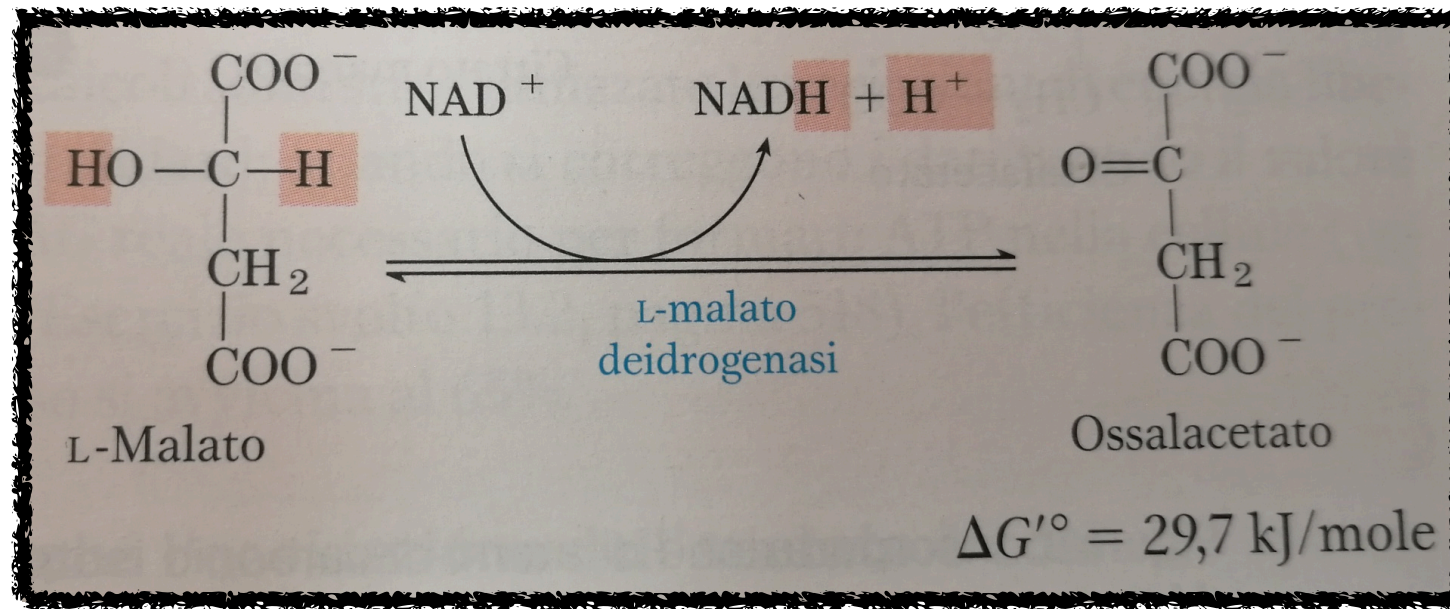
Succinato deidrogenasi (legata alla membrana interna mitocondriale). Passaggio diretto di elettroni dal FADH₂ ai trasportatori di membrana per la generazione di ATP (vedasi in seguito la fosforilazione ossidativa)

FAD e FMN (nucleotidi flavinici) sono di solito legati molto saldamente agli enzimi di cui sono cofattori (si può parlare di gruppi prostetici)

Ciclo dell'acido citrico: **fumarasi (7°)**



Ciclo dell'acido citrico: **L-malato deidrogenasi (8°)**

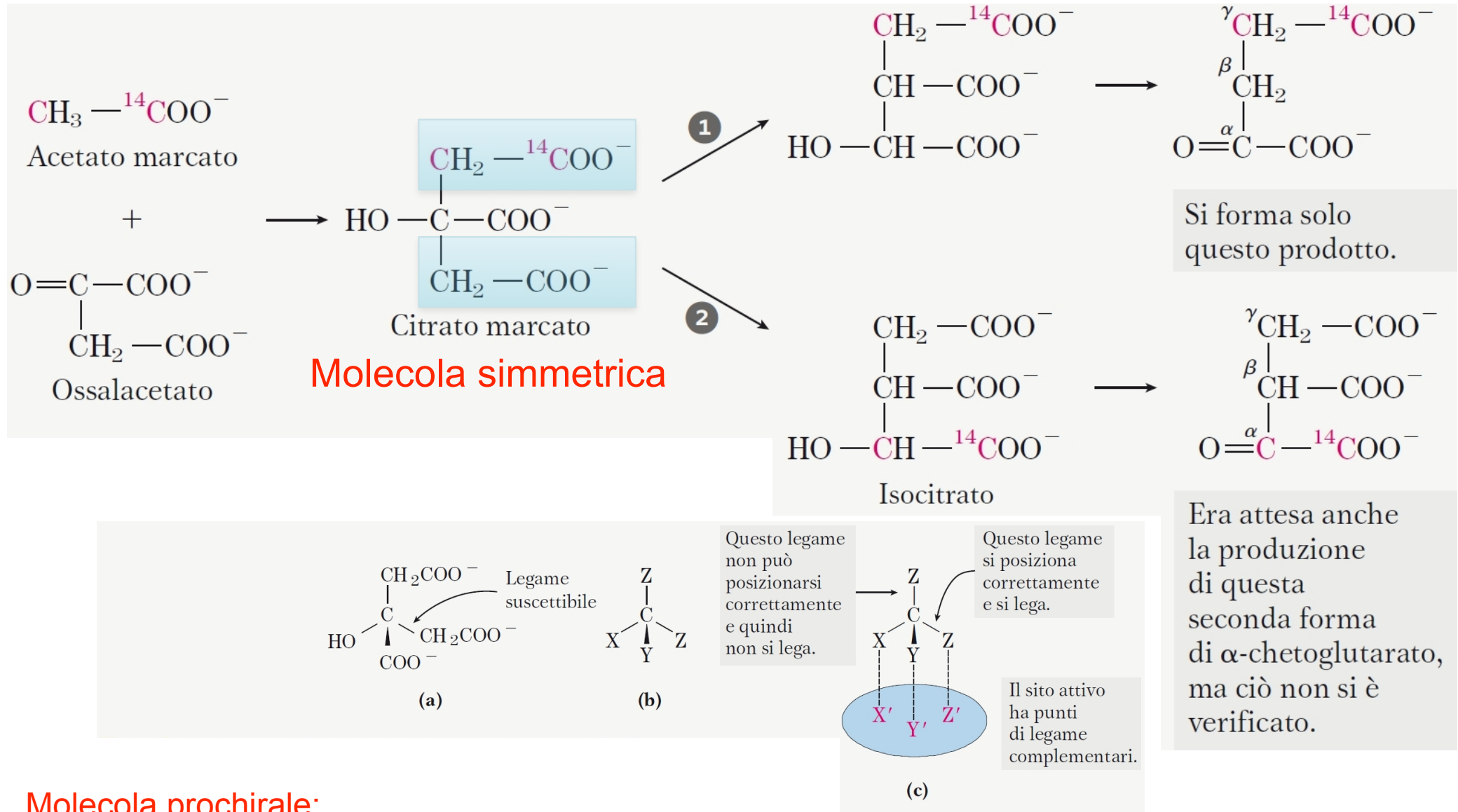


L'ultima tappa rigenera l'ossalacetato per dare il via ad un ulteriore ciclo. L'ossalacetato è presente a basse concentrazioni poichè viene continuamente sottratto dal ciclo (citrato sintasi). Questo rende energeticamente favorevole la reazione nonostante il suo $\Delta G'^{\circ}$!!!! Sia +29,7 kJ/mole!!!! **(NB: differenza tra $\Delta G'^{\circ}$ e $\Delta G'$!)**

Abbiamo visto questa reazione quando abbiamo parlato della gluconeogenesi: partenza da Piruvato, trasporto nel mitocondrio, trasformazione in ossalacetato, riduzione a malato, trasporto nel citosol, ossidazione a ossalacetato e trasformato in fosfoenolpiruvato. In effetti il $\Delta G'$ in condizioni fisiologiche è quasi pari a 0 data la bassa concentrazione di ossalacetato, un'innalzamento della concentrazione di ossalacetato fa percorrere questa tappa in senso inverso!

Destino degli atomi di Carbonio del gruppo acetile del Acetil-CoA

Possibile marcare le molecole con isotopi radioattivi (i.e. ^{14}C)

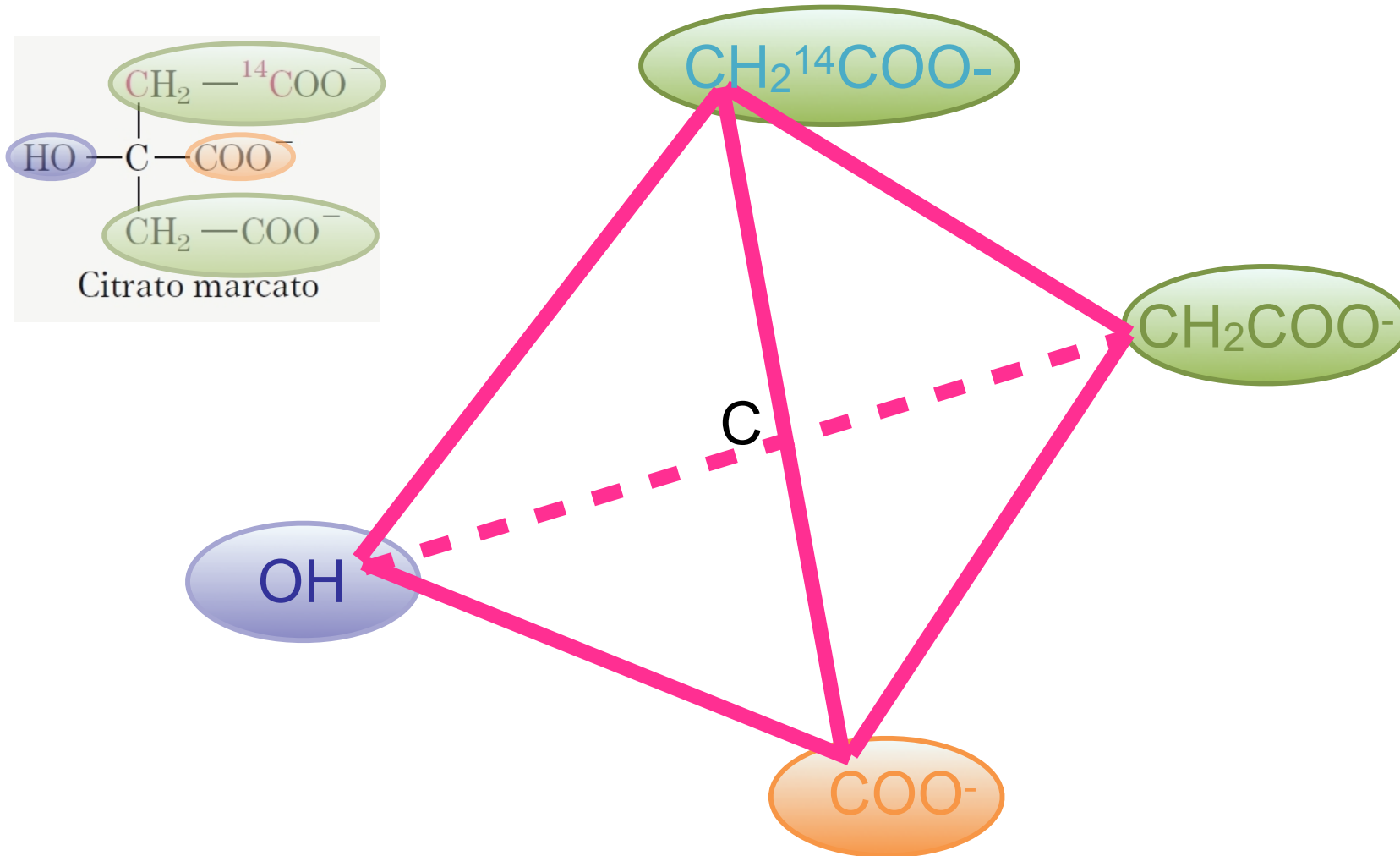


Molecola prochirale:

Non ha un centro chirale ma reagisce in modo asimmetrico con un sito asimmetrico

Piramide con posizionamento di tre vertici obbligato (sito di legame del citrato sull'aconitasi).

Reazione asimmetrica di una molecola simmetrica (legame asimmetrico del citrato sull'anicotasi)



Compito per casa: costruitevi una piramide triangolare, colorate le punte di colori diversi (vedasi sopra), poggiatela su un foglio, colorate dello stesso colore delle punte che appoggiano i punti dove le punte contattano il foglio, provate a collocare la punta che è “rimasta fuori” in modo che due punte (arancione e azzurro) siano sui colori corrispondenti ... buon divertimento!!!!

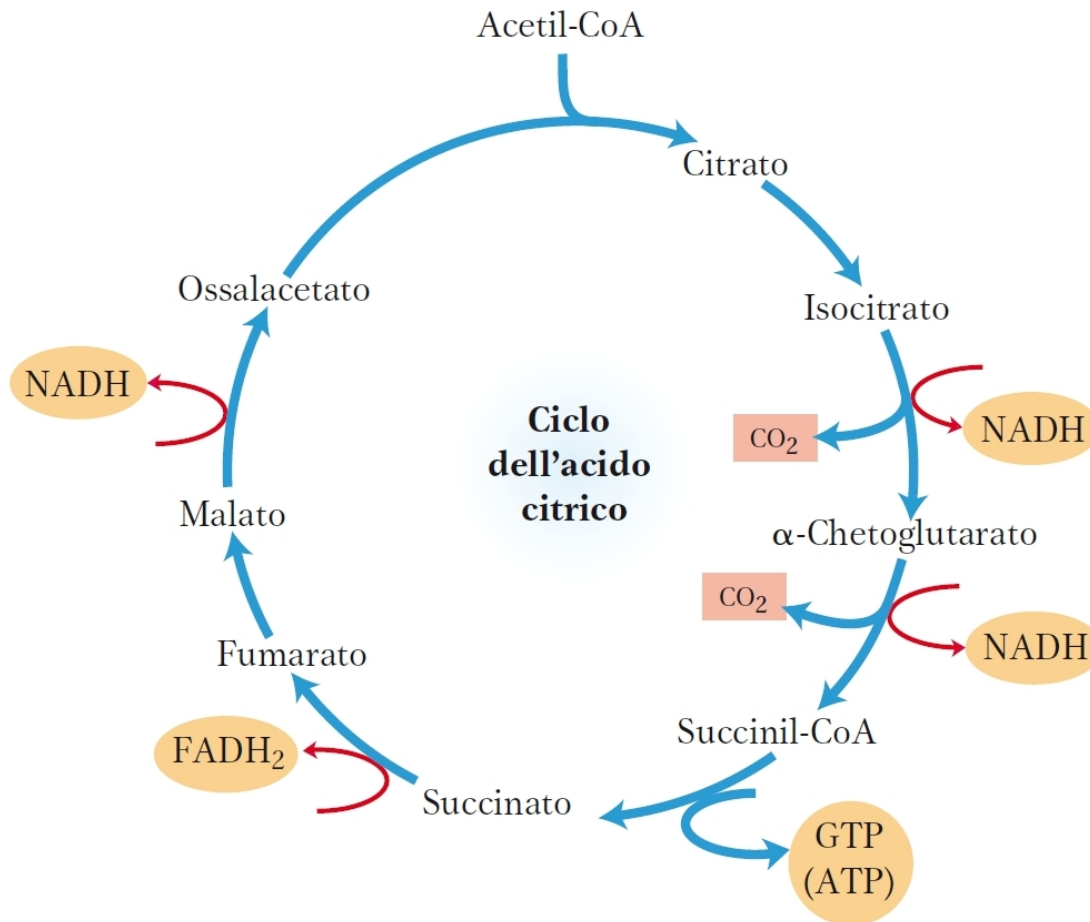
Bilancio energetico

Dal Glucosio a 2 Piruvato: 2NADH (5 ATP), 2ATP = [7ATP]

Dal 2 Piruvato a 2 Acetil-CoA: 2NADH (5 ATP) = [5ATP]

Ciclo acido citrico (per 2 Acetil-CoA): 6NADH (15 ATP), 2ATP, 2FADH₂ (3ATP) = [20 ATP]

Totale: 32 ATP



Ossidazione completa
del Glucosio a CO₂

-2840 kJ/mole

Energia di idrolisi dell'ATP
Circa -30,5 kJ/mole

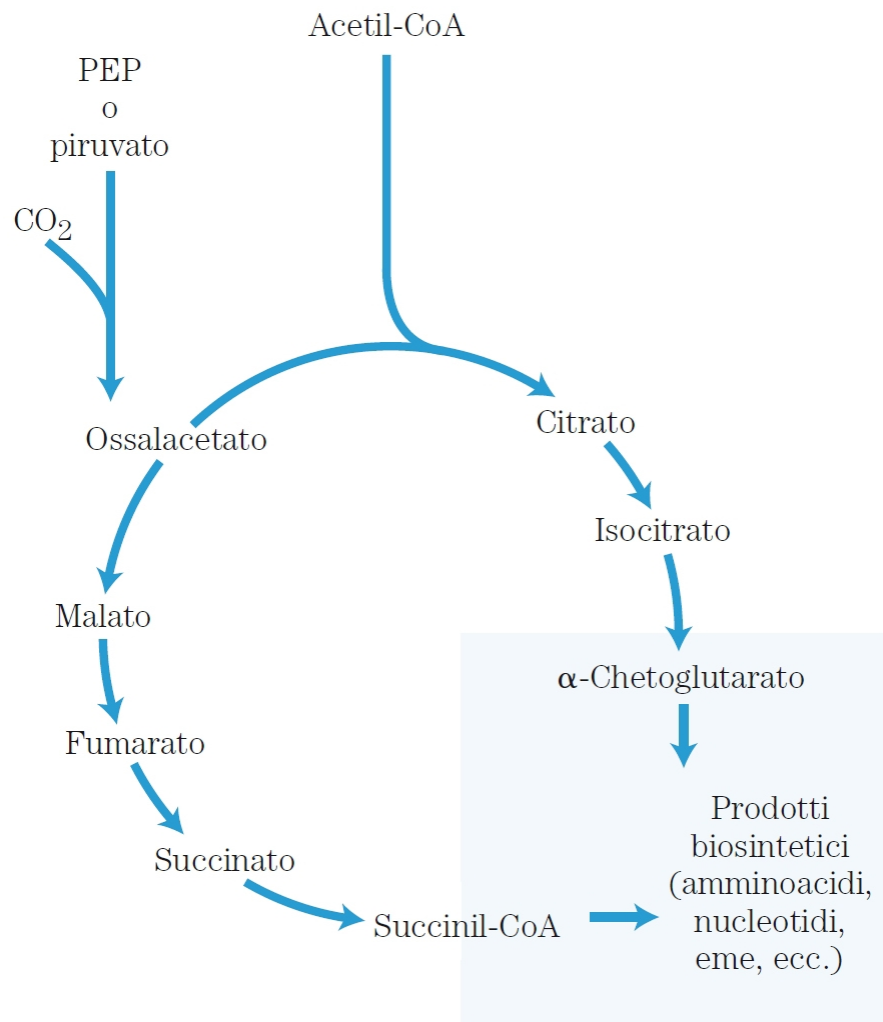
30,5 kJ/mole x 32 = -976 kJ/mole

-976/-2840 = 34%

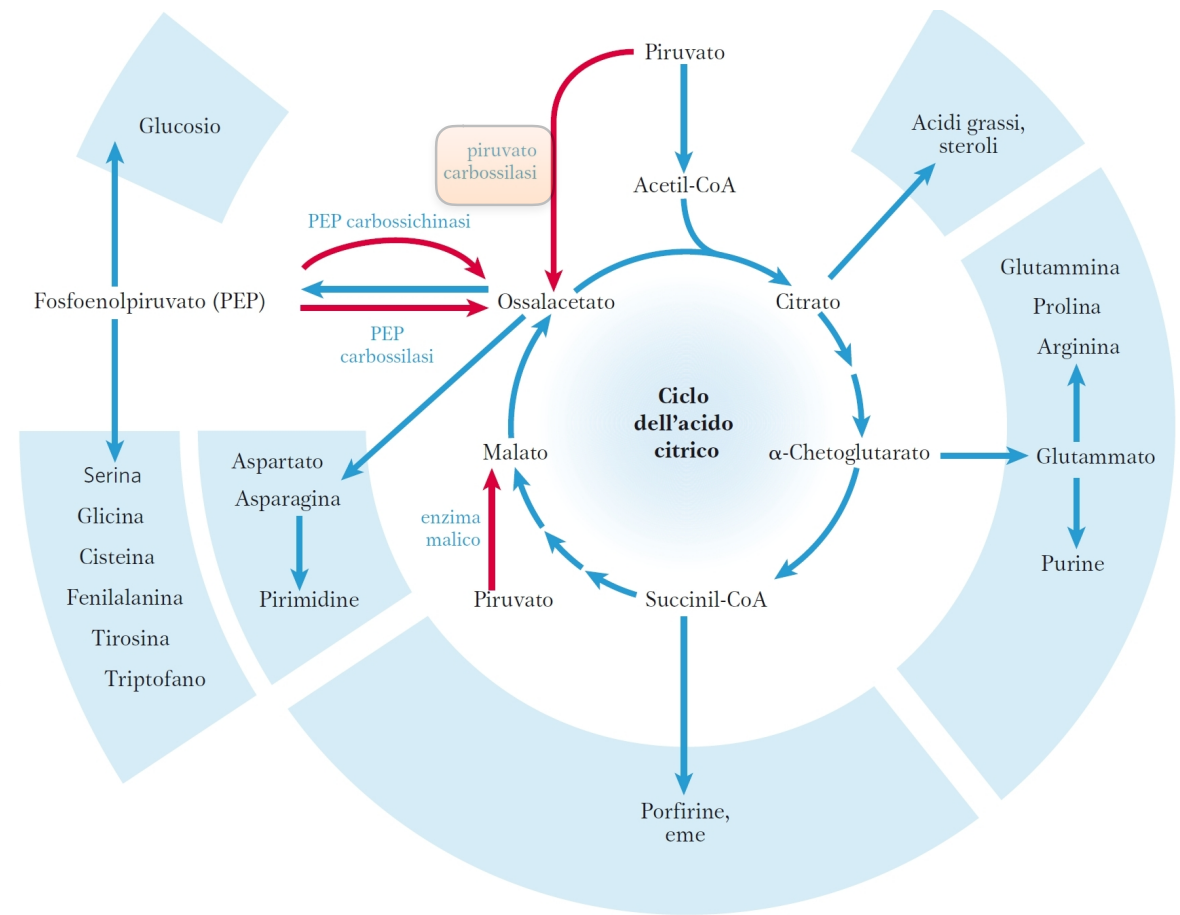
Efficienza energetica
Conservazione energetica
Energia contenuta nel glucosio che può
essere spesa per compiere lavoro
(in condizioni standard)

Ciclo dell'acido citrico: tra il catabolismo e l'anabolismo

Ciclo dell'acido citrico **incompleto** in batteri anaerobici: sintesi di precursori



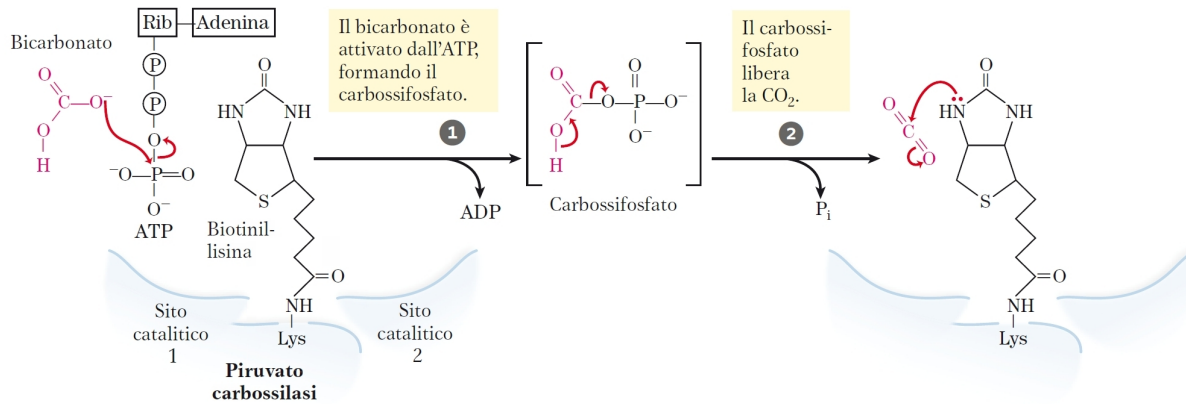
Ciclo dell'acido citrico: via **anfibolica** (serve sia per il catabolismo che per l'anabolismo)



Reazioni Anaplerotiche (ripristino degli intermedi sottratti per le vie anaboliche)

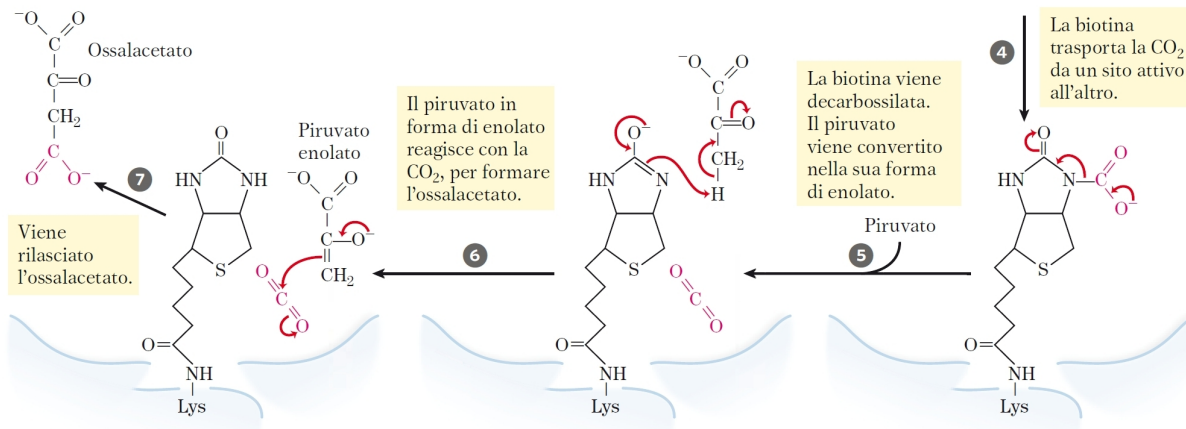
Durante l'evoluzione la comparsa dell'O₂ nell'atmosfera ha "spinto" verso la "chiusura" del ciclo

Piruvato carbossilasi (tetramero) (vedasi anche Gluconeogenesi)

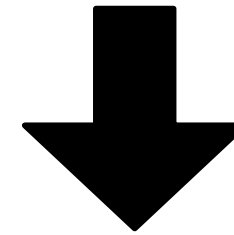


Biotina: braccio molecolare in grado di legare una molecola e trasferirla da un sito attivo ad un altro (incanalare il substrato). **La molecola in questo caso è la CO_2**

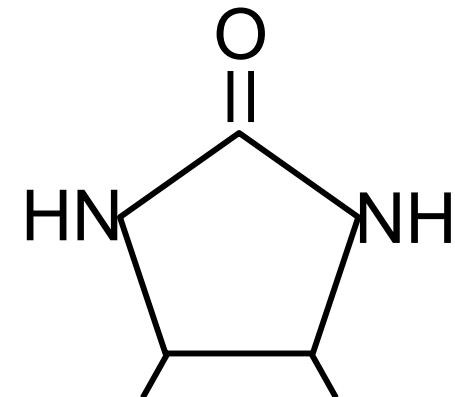
NB: ruolo del carbanione!



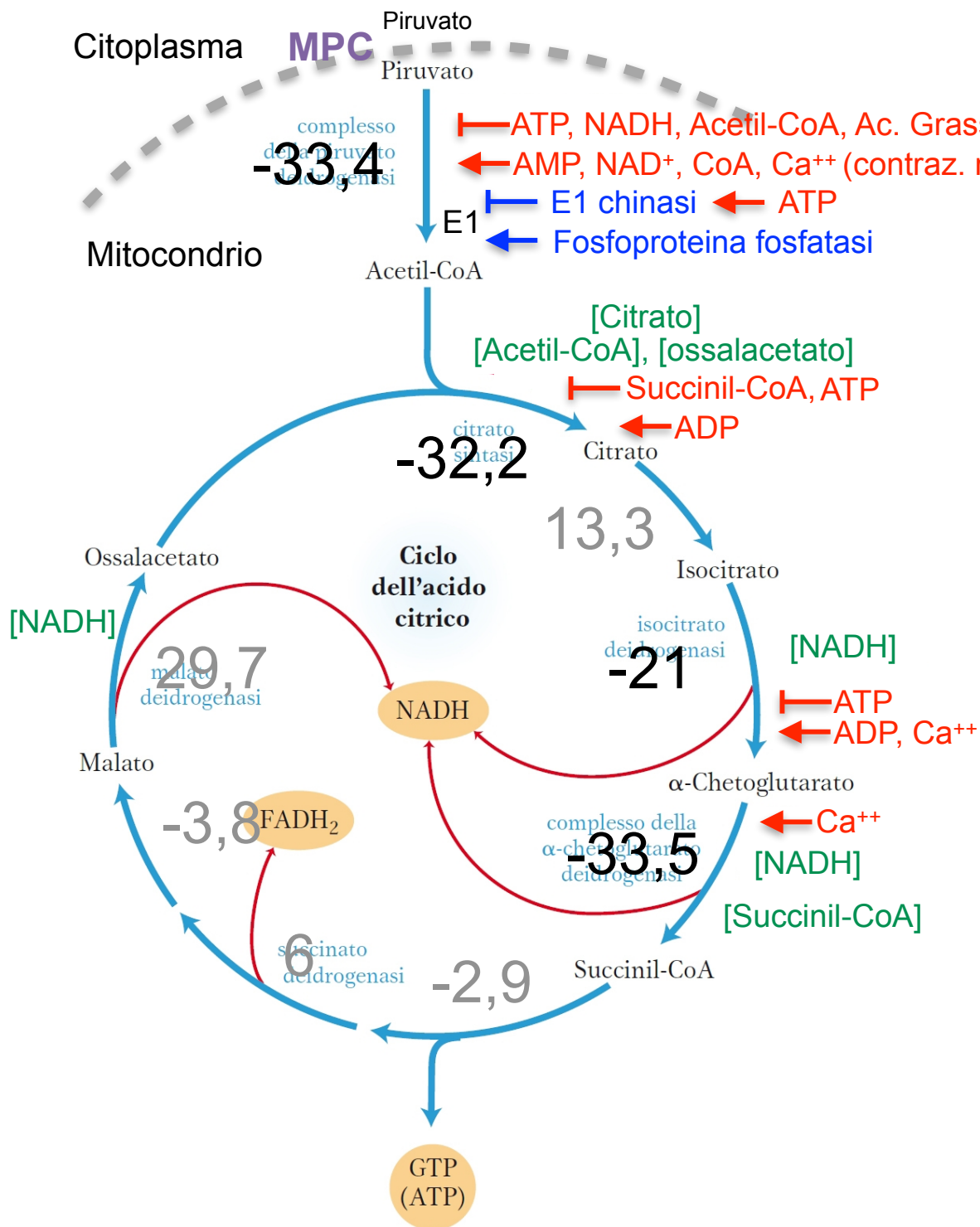
Acetil-CoA: modulatore allosterico positivo



Se è disponibile **Acetil-CoA** per il ciclo dell'acido citrico allora ci deve essere anche **ossalacetato**, ecco che la presenza di Acetil-CoA attiva la **piruvato carbossilasi** per produrre **ossalacetato**



Notare che anche in questo caso il residuo su cui è legato il braccio è la lisina, che ha una catena laterale molto lunga. **La biotina partecipa anche al meccanismo enzimatico**



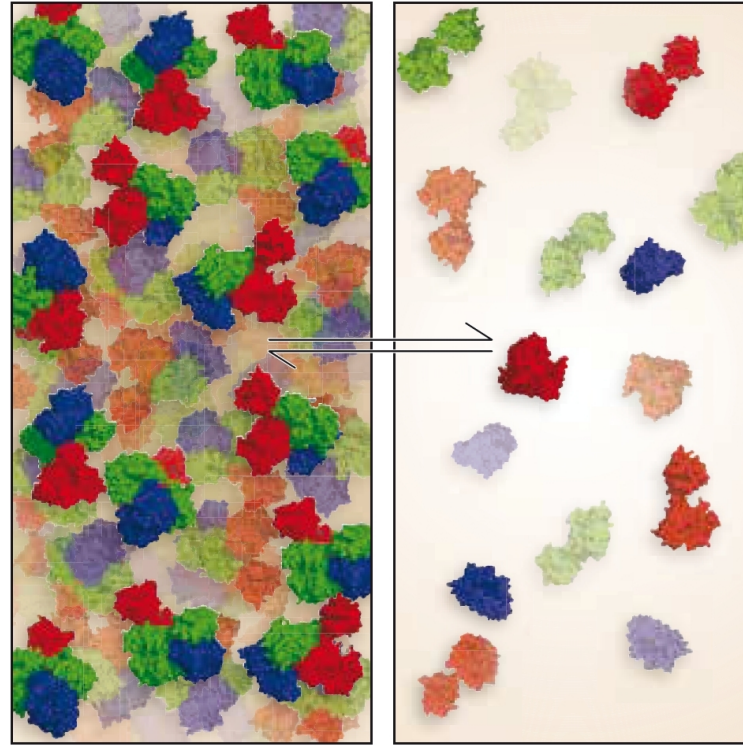
Regolazione del ciclo dell'acido citrico

- 1) **Allosterica**
- 2) **PTMs**
- 3) **Azione di massa**
(Fattori limitanti, in senso positivo o negativo)
- 4) **Trasporto Piruvato**

NB: Glicolisi e ciclo dell'acido citrico sono coordinate.

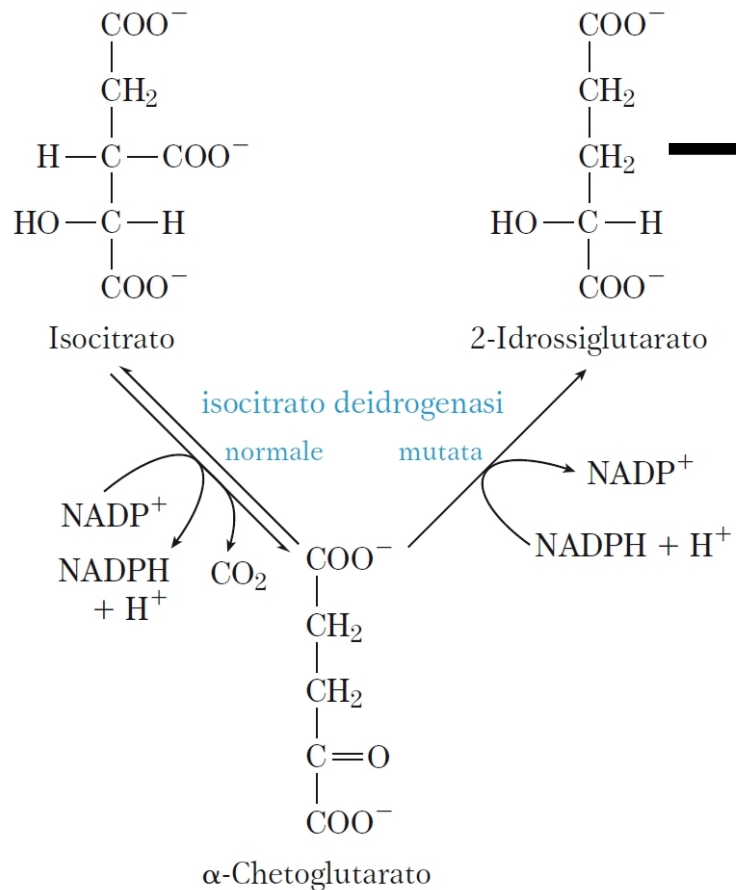
Citrato è un **inibitore allosterico** della fosfofruttochinasi-1, e ATP e NADH concorrono a regolare il flusso.

Limite tra studi in vitro e situazione in vivo



Quando sottoponiamo le cellule a lisi per “estrarre” e studiare i suoi componenti alteriamo la condizione che si ha in vivo. Per quanto riguarda il metabolismo, molto spesso gli enzimi lavorano in complessi sovramolecolari (protein factories) dove si aumenta notevolmente l’efficienza di passaggio dei substrati/prodotti tra un enzima e l’altro. I dati che otteniamo su “sistemi” studiati in vitro non sempre rispecchiano le condizioni in vivo.

Metabolismo e cancer



Histone

Gene

\longrightarrow HDM \longrightarrow epigenetic code \longrightarrow expression regulation

Alterazioni a livello metabolico possono essere connesse a diversi tipi di patologie, anche non prettamente di tipo metabolico, come l'insorgenza di tumori. Nell'esempio fatto sopra, una mutazione a carico della isocitrato deidrogenasi porta alla produzione di 2 idrossiglutarato che è un inibitore di demetilasi istoniche, con conseguenze epigenetiche relate al codice istonico e quindi ad alterata espressione genica che può avere come conseguenza anche l'insorgenza di tumori. I metaboliti e gli intermedi delle varie vie metaboliche possono diffondere nella cellula ed espletare azioni non attese, sia a livello citoplasmatico che a livello nucleare.